

DOI:10.11931/guihaia.gxzw201812057

# 大花蕙兰‘红酒’×莲瓣兰‘边草素花’杂交种组培快繁技术

刘洋, 王玉英, 李枝林\*, 李茹

(云南农业大学 园林园艺学院, 昆明 650201)

**摘要:** 以大花蕙兰‘红酒’(*Cymbidium hybridum* ‘hongjiu’)×莲瓣兰‘边草素花’(*tortisepalum* ‘biancaosuhua’)F1 代杂交种原球茎和根状茎为试材, 比较不同激素配比增殖分化、生根的培养基, 建立适用杂交兰组培快繁体系。结果表明: 1/2MS+6-BA1.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA1.0 mg·L<sup>-1</sup>+AC0.05%+香蕉 80 g·L<sup>-1</sup> 对原球茎增殖效果最佳, 增殖率达 307%; 1/2MS+6-BA1.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA1.0 mg·L<sup>-1</sup>+AC0.05%+香蕉 80 g·L<sup>-1</sup> 有利于原球茎分化, 分化率为 82%; 1/2MS+TDZ2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.1 mg·L<sup>-1</sup>+AC0.05%+香蕉 80 g·L<sup>-1</sup> 对根状茎增殖分化效果最佳, 增殖率为 293%, 分化率为 79%; 1/2MS+IBA0.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.3 mg·L<sup>-1</sup>+AC0.05%+香蕉 80 g·L<sup>-1</sup> 为最佳生根培养基, 生根率达 84.7%, 且根粗苗壮, 叶色浓绿。此体系为杂交兰种苗规模生产提供了技术支持。

**关键词:** 兰花杂交种, 根状茎, 原球茎, 增殖与分化

## Tissue Culture and Rapid Propagation Techniques in *Cymbidium hybridum* ‘hongjiu’×*tortisepalum* ‘biancaosuhua’

LIU Yang<sup>1</sup>, WANG Yuying, LI Zhilin\*, Li Ru

(Institute of Landscape Plants, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

**Abstract:** The protocorms and rhizomes of F1 hybrids of *Cymbidium hybridum* ‘hongjiu’ and *tortisepalum* ‘biancaosuhua’ were used as materials, comparing the effects of different hormone ratios on proliferation and rooting to establish a rapid propagation technique system of hybrid orchid. The results show that 1/2MS+6-BA1.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA1.0 mg·L<sup>-1</sup>+AC0.05%+banana 80 g·L<sup>-1</sup> conducive to proliferation of protocorm, and the proliferative rate reached to 307%; 1/2MS+6-BA1.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA1.0 mg·L<sup>-1</sup>+AC0.05%+banana 80 g·L<sup>-1</sup> medium is beneficial to differential protocorm culture, and the differential rate is 82%; 1/2MS+TDZ2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.1 mg·L<sup>-1</sup>+AC0.05%+banana 80 g·L<sup>-1</sup> medium is conducive to proliferation and differentiation of rhizome, and the proliferative rate reached to 293%, the differential rate is 79%. 1/2MS+IBA0.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.3 mg·L<sup>-1</sup>+AC0.05%+banana 80 g·L<sup>-1</sup> is the best medium for rooting, the rooting rate is 84.7%, and the roots are health with strong, and dark green with the leaves. This system provides technical support for large-scale production of hybrid orchid seedlings.

**Key words:** Orchid hybrids, rhizome, protocorms, proliferation and differentiation

兰花为中国传统名花, 观赏价值极高。国兰(*Chinese Cymbidium*)是中国传统十大名花之一, 通常是指兰科兰属(*Cymbidium*)植物中的部分地生兰, 其花型较小, 但气味芳香、叶态优美。大花蕙兰(*Cymbidium hybridum*)属兰科(Orchidaceae)兰属(*Cymbidium*)多年生草本植物, 是兰属内一些附生兰杂交种的统称, 其大部分品种叶片长且披散, 花无香味(朱根发等, 2004)。大花蕙兰‘红酒’为大花、早开花品种, 常在圣诞节前后开花, 可用于培育圣诞节开花的红花盆栽品种。莲瓣兰‘边草素花’是兰科兰属多年生草本植物, 属地生兰, 为细叶莲瓣兰类, 叶槽较深, 叶边金黄色, 花为淡黄色全素, 开花 2-4 朵, 花幽香。

以‘红酒’×‘边草素花’为亲本进行种间杂交，意在获得花期长、花朵较大、鲜艳美丽有香味的兰花新品种。大花蕙兰(*Cymbidium hybridum*)采用传统的分株繁殖，繁殖速度慢、周期长（卢思聪，1994），大多是引进的国外优良品种，难以满足市场需求，故通过组织培养来快速繁殖大花蕙兰。国内外已开展了对兰花杂交种的研究，目前已有数千个品种，但对地生兰和附生兰杂交种的研究较少。近年来国内研究多集中在杂交育种和胚培养方面（郑立明，2010；朱根发等，2005；丁长春和夏念和，2011；陈瑶瑶等，2009），杂交兰原球茎的增殖分化报道偏多（宋莲等，2017；谢利等，2014），根状茎报道较少，但对大花蕙兰‘红酒’×莲瓣兰‘边草素花’F1代杂交种的快繁技术尚未有研究报道。因此，该研究以大花蕙兰‘红酒’×莲瓣兰‘边草素花’F1代杂交种的根状茎和原球茎为试材，在不同的培养基上进行增殖分化、生根，筛选出最适培养基，从而为杂交兰的工厂化生产和新品种选育奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

大花蕙兰‘红酒’(♀)与莲瓣兰‘边草素花’(♂)杂交种原球茎和根状茎材料，由云南农业大学花卉研究所自主培育。杂交种萌发后产生原球茎和根状茎。杂交兰产生的胚状体长条状，称为根状茎，形成的胚状体圆球状，称为原球茎。分别从中挑选出性状长势一致的原球茎和根状茎为试材。本试验在云南农业大学园林园艺学院花卉所组培实验室进行。

### 1.2 方法

1.2.1 原球茎和根状茎的增殖分化 将原球茎大小为 0.3 cm 和根状茎约为 1.5 cm，分别接种于 1/2MS 基本培养，添加不同浓度配比的 NAA、TDZ 和 6-BA，附加香蕉 80 g·L<sup>-1</sup> 和活性炭 0.5 g·L<sup>-1</sup>，暗培养 45 d 后再进行光照培养。培养条件为温度(23±2)℃，光照度 1800~2500 lx。pH5.8，琼脂 7 g·L<sup>-1</sup> 和蔗糖 30 g·L<sup>-1</sup>。每处理 42 个原球茎，根状茎处理 30 个，重复 3 次。计算 30 d 后的增殖率和 60 d 后的出芽率进行数据分析。

1.2.2 生根培养 将苗高 2~3 cm 的无根苗接种于 1/2MS 基本培养添加如下植物激素浓度：6-BA 0.3 mg·L<sup>-1</sup>，NAA 0~2.0 mg·L<sup>-1</sup> 和 IBA 0~1.0 mg·L<sup>-1</sup> 上进行光照培养，培养条件同上。培养 60 d 统计生根率、根长、根粗等情况。

### 1.3 数据统计分析

原球茎增殖分化阶段每瓶 5 个，每处理 10 瓶，重复 3 次；根状茎增殖分化阶段每瓶 5 个，每处理 10 瓶，重复 3 次；生根培养阶段每瓶 5 苗，每处理 10 瓶，重复 3 次。数据采用 DPS9.50 统计软件分析进行差异显著性分析。

## 2 结果分析

### 2.1 不同激素配比对原球茎增殖分化的影响

在原球茎增殖分化培养基中，培养 10 d 后，开始增殖、出芽分化，随着天数增加增殖率、出芽率增大，30 d 后不同激素配比培养基增殖率、出芽率有所差异。由表 1 可知，随着 6-BA 浓度的增加，增殖率出现了先上升后下降的趋势，不同浓度 6-BA 对杂交兰原球茎增殖分化影响显著，2 号培养基 1/2MS+6-BA 1.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 1.0 mg·L<sup>-1</sup>+AC 0.05%+香蕉 80 g·L<sup>-1</sup> 对原球茎增殖分化最好，增殖率为 307%；比 6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>、2.5 mg·L<sup>-1</sup> 的培养基显著高 186%、344%，数据表明 6-BA 浓度高于 2.0 mg·L<sup>-1</sup>，原球茎增殖率明显下降，原球茎出芽率增殖不明显，5 号培养基出现了部分褐化，由此可见激素浓度大于一定限度不利于原球茎增殖。3 号培养基出芽率显著高于其他培养基，出芽率为 82%，分别比添加 NAA 1.0、2.0、2.5 mg·L<sup>-1</sup> 培养基培养出的芽率显著高 105%、78%、310%，芽体翠绿，无褐化情况，可见 6-BA 1.5 mg·L<sup>-1</sup> 最适于原球茎出芽增殖，太低或太高浓度的 6-BA 均不能启动芽分化，还会导致出芽黄化。以上结果表明了 6-BA 1.0 mg·L<sup>-1</sup> 有利于原球茎增殖，6-BA 1.5 mg·L<sup>-1</sup> 促进分化培养效果最佳，高浓度 6-BA 抑制

了增殖分化效果。

表 1 不同培养基对大花蕙兰‘红酒’×莲瓣兰‘边草素花’原球茎增殖分化的影响

Table 1 Effects of different mediums on proliferation and differentiation protocorms

培养基 编号 Medium number	6-BA 浓度 Concentra tion (mg·L <sup>-1</sup> )	NAA 浓度 Concen tration (mg·L <sup>-1</sup> )	接种原 球茎数 Inoculation number (个)	原球茎 增殖数 Multiplication number (个)	增殖率 Multipli cation rate (%)	原球茎 出芽数 Budding number (个)	原球茎 出芽率 Budding rate (%)
1	0.5	1.0	42	57	143c	27	27c
2	1.0	1.0	42	123	307a	66	40b
3	1.5	1.0	42	90	221b	108	82a
4	2.0	1.0	42	44	107d	39	46b
5	2.5	1.0	42	27	69e	14	20c

注：同列数据后不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。

Note:different letters show significant difference.

2.2 不同激素配比对杂交兰根状茎增殖分化的影响

将原球茎诱导出来的根状茎接种于不同浓度的培养基中进行培养，随时间延长增殖分化出根状茎、不定芽。结果如表 2 所示，不同浓度 TDZ 对根状茎增殖分化效果明显，NAA 浓度为 0.3 mg·L<sup>-1</sup>，处理 1 比含 TDZ2.0 mg·L<sup>-1</sup>、3.0 mg·L<sup>-1</sup> 的培养基显著高 288%、443%，随着 TDZ 浓度的增加，增殖率出现了明显下降的趋势，表明高浓度的 TDZ 不利于根状茎增殖，根状茎长度增长不明显，颜色较浅。TDZ 浓度为 2.0 mg·L<sup>-1</sup> 时，NAA 浓度为 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 分化效果最佳，分别比添加 NAA0.3 mg·L<sup>-1</sup>，NAA0.5 mg·L<sup>-1</sup> 的培养基显著高 216%、203%，且颜色呈绿色，根状茎长度明显增长，在原有的根状茎上增殖出长短不一的根状茎，茎周围新长出茂密的绒毛。随着 NAA 浓度增加分化率越低，抑制芽的分化，芽体颜色较浅，为淡绿色。所以综合考虑 4 号培养基 1/2MS+TDZ2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.1 mg·L<sup>-1</sup>+AC0.05%+香蕉 80 g·L<sup>-1</sup> 对根状茎增殖分化效果最佳，增殖率为 293%，出芽率为 79%，出芽较多，芽体呈绿色。以上结果表明 TDZ2.0 mg·L<sup>-1</sup> 和 NAA0.1 mg·L<sup>-1</sup> 组合使用有利于根状茎的增殖分化，高浓度的 TDZ、NAA 抑制根状茎的增殖分化效果。

表 2 不同培养基对大花蕙兰‘红酒’×莲瓣兰‘边草素花’根状茎增殖分化的影响

Table 2 Effects of different mediums on proliferation and differentiation rhizome

培养基 编号 Medium number	TDZ 浓度 Concentrat ion (mg·L <sup>-1</sup> )	NAA 浓度 Concentr ation (mg·L <sup>-1</sup> )	接种根 状茎数 rhizomes number (个)	根状茎 增殖数 Rhizome Proliferation (个)	增殖率 Multipl ication rate (%)	根状茎 出芽数 Budding number (个)	根状茎 出芽率 Budding rate (%)
1	1.0	0.3	30	49	163b	25	32c
2	2.0	0.3	90	38	42d	59	46b
3	3.0	0.3	90	27	30d	29	25c
4	2.0	0.1	30	88	293a	92	79a
5	2.0	0.5	30	23	77c	14	26c

2.3 不同 NAA 、IBA 浓度生根的影响

将原球茎和根状茎分化的无根小苗接种于不同培养基中培养，随着时间延长苗体数量不断增加、增大，60 d 统计结果如表 3 可知，不同激素配比的培养基对植株生根有影响。2 号培养基和 3 号培养基的生根率均较高，NAA 浓度在 0.5~1.0 mg·L<sup>-1</sup> 为最佳浓度，生根率均达到 72%，根系诱导较好，根粗而多，叶色浓绿，长势好；当 NAA 浓度大于 1.0 mg·L<sup>-1</sup> 苗的生根受到抑制，生根率出现了先上升后下降的趋势；受诱导形成的组培苗本身激素含量的影响，壮苗培养时低浓度的 NAA 可以更好的促进苗体生长，比添加 NAA1.5 mg·L<sup>-1</sup>、2.0 mg·L<sup>-1</sup> 显著高 46%、140%。但是不添加 NAA 植株表现为矮化，叶片部分黄化。随着 IBA 浓度增大，生根率也明显提高，生根率出现了先上升后下降的趋势。在左利娟（左利娟等，2015）等人的实验中 IBA 浓度对杂交兰根状茎有促进作用，本实验 NAA 为 0.3 mg·L<sup>-1</sup> 和 IBA0.5 mg·L<sup>-1</sup> 组合使用为最佳浓度，生根率为 84.7%，分别比添加 IBA0 mg·L<sup>-1</sup>、0.3 mg·L<sup>-1</sup>、1.0 mg·L<sup>-1</sup> 的培养基显著高 11%、32.9%、57.4%。综合考虑，1/2MS+IBA0.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.3 mg·L<sup>-1</sup>+AC0.05%+香蕉 80 g·L<sup>-1</sup> 为最佳生根培养基。以上结果表明高浓度 NAA 抑制了生根效果，IBA0.5 mg·L<sup>-1</sup> 和 NAA0.3 mg·L<sup>-1</sup> 组合使用促进植株生根，且叶色浓绿，根数较多而粗，苗长势良好。

表 3 不同激素浓度对杂交种苗生根情况

Table 3 Effects of different hormone concentrations on rooting of hybrid seedlings

编号 N u m b e r	IBA	NAA	6-BA	NAA	转接 根数	生根情况				苗生长情况
	浓度	浓度	浓度	浓度	Root num ber  (条)	Rooting condition			Growth of seedlings	
	Concen tration	Concen tration	Concent ration	Concent ration		生根 率	平均根 数	平均根 长		根粗
	(mg· L <sup>-1</sup> )	(mg·L <sup>-1</sup> )	(mg·L <sup>-1</sup> )	(mg·L <sup>-1</sup> )		rooting percen tage (%)	Average number of roots (条)	Average number of roots (mm)		Root diame ter
1	0	0	0.3	0	0	46.06b	0.89bc	12.57a	+	叶黄化，长势差 Yellowing, poor growth
2	0	0	0.3	0.5	0	72.14a	1.23abc	11.50a	+++	叶色浓绿，长势良好 Leaves are dark green and grow well
3	0	0	0.3	1.0	0	72.82a	1.62a	9.83ab	++	叶色浓绿，长势较好 Leaves are dark green and grow well 植株矮化，少量叶片 黄化
4	0	0	0.3	1.5	0	49.61b	1.31ab	8.09b	+	Plant dwarfing,a small amount of leaf yellowing
5	0	0	0.3	2.0	0	30.95b	0.84c	7.05b	++	茎粗壮，长势一般 Stems strong,

										general growth
										有部分褐化,长势差
6	0	0.3	0	0	0	39.24b	0.94a	4.7b	+	Partial browning, poor growth
										苗粗壮, 长势一般
7	0.3	0.3	0	0	0	63.72a b	1.21a	9.01a	++	The seedlings are strong and grow normally
										叶色浓绿,长势良好
8	0.5	0.3	0	0	0	84.71a	1.33a	8.02a	++	The leaves are dark green and grow well
										叶色浓绿,长势一般
9	1.0	0.3	0	0	0	53.83a b	1.18a	9.25a	+++	Leaves are dark green and grow normally

注：— 代表不生长; + 代表根粗一般; ++ 代表根粗良好; +++ 代表根粗健壮。  
Note: — No growth; + Roughness of roots is general; ++ Root thickness is good; +++ Root Thickness and Robustness

### 3 结论与讨论

兰科植物大多是由原球茎分化成完整植株（Amaki & Haguchi, 1989），杂交兰诱导分化出原球茎进一步生长为根状茎（王国兴，1989），用于兰花组培的材料主要有茎尖、叶片、种子，目前大多采用种子萌发形成中间材料进行扩繁，本实验以杂交兰原球茎和根状茎为材料进行组培研究，以期实现杂交兰的规模化繁殖。

原球茎增殖分化选择培养基尤为重要，适宜浓度的激素配比对原球茎的增殖分化影响较大。吴彦秋（吴彦秋，2016）以杜鹃兰原球茎为材料，对比在 1/2MS、MS、VW、KC 培养基上的不同生长情况，1/2MS 培养基的增殖率及长势显著高于其它处理。孙芳等研究也显示（孙芳等，2012；孙玉芬等，2014）兰属植物组培以 1/2MS 效果较适宜。聂菁（聂菁等，2016）等人以蝴蝶兰品种‘红太阳’无菌播种形成的原球茎为材料，6-BA5.0 mg·L<sup>-1</sup>、NAA0.7 mg·L<sup>-1</sup> 为最佳的类原球茎诱导和增殖培养基浓度；本实验在激素和培养基选择具有相同性，以 1/2MS 培养基中添加 6-BA1.0 mg·L<sup>-1</sup>、NAA1.0 mg·L<sup>-1</sup> 增殖分化效果最佳，添加 NAA、6-BA 有利于原球茎分化，这与相关研究（宋莲等，2017；胡蕾和申婷，2017）一致，说明不同品种的杂交兰对激素的敏感性有差异。杂交兰通过种子萌发获得原球茎，进一步分化出根状茎，根状茎增殖速度较慢，故提高根状茎的繁殖系数尤为关键。有研究表明 6-BA 和 NAA 组合使用促进根状茎增殖分化（陈云喜等，2010），说明原球茎和根状茎增殖分化有其相似性。TDZ 能刺激植株再生（Hutchinson& Saxena, 1996），但 TDZ 诱导芽变成完整植株存在问题，如生根困难、不利于芽的生长等（Huetteman & Preece, 1993）。在红花草莓组培诱导过程中 TDZ 的诱导效果优于 6-BA，TDZ 与 NAA 配合使用效果优于与 IBA 的组合（金美芳等，2017）。在蝴蝶兰的不定芽诱导中，单独添加 TDZ 或 6-BA 芽诱导率显著高 NAA 与 TDZ 或 6-BA 的组合添加（程强强等，2011）。TDZ 在杂交兰根状茎的增殖分化方面的研究尚未报道，因此本实验使用 TDZ 和 NAA 促进根状茎增殖，结果表明 TDZ 浓度 2.0 mg·L<sup>-1</sup> 和 NAA0.1 mg·L<sup>-1</sup> 组合使用时根状茎增殖的最佳效果，这与程强强等人研究的有所差异，可能受植株本身激素的影响，在增殖培养中所需 NAA 浓度较低，激素浓度使用有所不同，使用新型激素 TDZ 和 NAA 组合使用促进根状茎增殖。组培苗



长势决定了其后期扩繁和移栽的难易程度, 许申平(许申平, 2018)等人以墨兰根状茎分化出苗, 培养基 MS+25 g·L<sup>-1</sup> 糖+7.5 g·L<sup>-1</sup> 琼脂+2 g·L<sup>-1</sup> 活性炭, 墨兰的生根效果最好, 6-BA 和 NAA 浓度增加幼苗生根率下降, 本研究与之相较差异较大, 这可能与杂交兰的特异性决定, 不同杂交兰遗传特性的差异导致在生根阶段所需激素种类不一, 同种激素不同浓度也决定了生根情况的较大区别, 激素选择上, IBA、NAA 组合比 6-BA、NAA 组合生根率要好, 生根培养基选择 1/2MS, IBA0.5 mg·L<sup>-1</sup> 和 NAA0.3 mg·L<sup>-1</sup> 组合使用促进植株生根, 叶色浓绿, 根数较多而粗, 生根效果最佳, 与左利娟等人研究一致。大量研究表明活性炭促进增殖分化、苗体生根、防止褐化, 王玉英(王玉英等, 2015)等在辐射诱变的线艺兰快繁技术体系研究中加入了 80 g·L<sup>-1</sup> 香蕉泥, 本实验在增殖分化、生根培养中均添加了香蕉泥和活性炭来促进苗体生长, 减轻叶片褐化现象。

通过该研究, 诱导筛选并建立了大花蕙兰‘红酒’×莲瓣兰‘边草素花’杂交兰的快繁技术体系, 研究结果表明: 最适宜原球茎增殖的培养基为 1/2MS+6-BA1.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA1.0 mg·L<sup>-1</sup>+AC0.05%+香蕉 80 g·L<sup>-1</sup>; 原球茎分化最佳培养基为 1/2MS+6-BA1.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA1.0 mg·L<sup>-1</sup>+AC0.05%+香蕉 80 g·L<sup>-1</sup>; 1/2MS+TDZ2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.1 mg·L<sup>-1</sup>+AC0.05%+香蕉 80 g·L<sup>-1</sup> 对根状茎增殖分化效果最佳; 1/2MS+IBA0.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.3 mg·L<sup>-1</sup>+AC0.05%+香蕉 80 g·L<sup>-1</sup> 为最佳生根培养基, 此体系的建立为种苗生产提供了技术支持。

#### 参考文献:

- Amaki W, Haguchi H, 1989. Effects of dividing on the growth and organogenesis of protocorm-like bodies in *Dortaea* [J]. *Sci Hort*, 39(1): 63-68.
- CHEN YY, ZHANG Y, ZHANG C, et al., 2009. A study on aseptic seed germination of interspecific hybrid between *Cymbidium hybrida* × *C. sinense* and *C. faberi* [J]. *Acta Hort Sin*, 36(3): 441-446. [陈瑶瑶, 张燕, 张琛, 等, 2009. 杂交兰‘韩国桃花’×蕙兰种间杂交种子无菌萌发特征研究 [J]. *园艺学报*, 36(3): 441-446.]
- CHEN YX, HE DD, LIAO HR, et al., 2010. Factors influencing on shoot differentiation of rhizome of *Cymbidium sinense* × *Cymbidium lancifolium* [J]. *J Zhejiang Agric Sci*, 58(2):259-260+264. [陈云喜, 何丹丹, 廖浩如, 等, 2010. 影响墨兰×兔耳兰根状茎芽分化的因素 [J]. *中国农学通报*, 26(09):65-69.]
- CHENG QQ, ZHUANG DH, XU DX, et al., 2011. The high-frequency induction of adventitious shoots and plant regeneration from leaf explants of *Phalaenopsis* with added thidiazuron [J]. *SP J*, 29(4):524-530. [程强强, 庄东红, 许大熊, 等, 2011. TDZ 高效诱导蝴蝶兰叶片不定芽及植株再生 [J]. *植物科学学报*, 29(04):524-530.]
- DING CC, XIA NH, 2011. Embryo culture of interspecific hybrid between *Cymbidium tortisepalum* and *C. skymint* patty [J]. *Southwest China J Agric Sci*, 24(4):1609-1611. [丁长春, 夏念和, 2011. 莲瓣兰与大花蕙兰‘黄金薄荷’种间杂种胚培养研究 [J]. *西南农业学报*, 24(4):1609-1611.]
- HU L, SHEN T, 2017. Tissue culture and rapid propagation of hybrid *orchid* [J]. *J Zhejiang Agric Sci*, 58(2):259-260+264. [胡蕾, 申婷, 2017. 杂交兰的组织培养与快繁技术 [J]. *浙江农业科学*, 58(2):259-260+264.]
- Hutchinson M J, Saxena P K., 1996. Acetylsalicylic acid enhances and synchronizes TDZ-induced somatic embryogenesis in geranium (*Pelargonium × hortorum* Bailey) tissue cultures [J]. *Plant Cell Rep*, 15:512-515.
- Huetteman C A, Preece J E., 1993. TDZ: a potent cytokinin for woody plant tissue culture [J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 33:105-119.

- JIN MF, CAO Z, CAI JJ, et al., 2017. Tissue culture and rapid propagation technique of red-flowered strawberry [J]. Guihaia, 37(11):1395-1405.[金美芳, 曹智, 蔡俊杰, 等, 2017. 红花草莓的组织培养与快繁技术研究 [J]. 广西植物, 37(11):1395-1405.]
- LU SC, 1994. Chinese Cymbidium and Tactics of Orchids [M]. Beijing:the GoldenShield Press: 62-81. [卢思聪, 1994. 中国兰与洋兰 [M]. 北京:金盾出版社: 62-81.]
- NIE Q, LIU LF, REN HH, et al., 2016. Preliminary Study on multiplication and regeneration system of protocorm-like bodies in phalaenopsis [J]. Shanxi Univ (Nat Sci Ed ),39(2):318-32.[聂菁, 刘丽凤, 任海虹, 等, 2016. 蝴蝶兰类原球茎诱导、增殖及植株再生条件初步研究[J]. 山西大学学报(自然科学版), 39(2):318-32.]
- SONG L, WANG YY, ZHANG YH, et al., 2017. Polyploid induction in *Cymbidium sinenthese* 'Lv mosu'× *Cymbidium hybridum* 'Shijieheping' rapid propagation techniques [J]. Jiangsu J Agric Sci, 45(24): 41-43. [宋莲, 王玉英, 张宇欢, 等, 2017. 墨兰绿墨素与大花蕙兰世界和平杂交种组培快繁技术 [J]. 江苏农业科学, 45(24):41-43.]
- SUN F, LI CX, ZHANG L, et al., 2012. Study on rapid propagation and differentiation of filial generation of *Cymbidium goeringii* [J]. Chin Agric Sci Bull, 28(10):189-193. [孙芳, 李承秀, 张林, 等, 2012. 春兰名品杂交后代快繁与分化研究 [J]. 中国农学通报, 28(10):189-193.]
- SUN XF, NING HJ, ZHANG SY, et al., 2006. Proliferation and differentiation of rhizomes from a filial generation of *Cymbidium goeringii* × *Cymbidium hybridum* [J]. J Zhejiang A & F Univ, 31(01):156-161. [孙玉芬, 宁惠娟, 张韶伊, 等, 2006. 春兰与大花蕙兰杂交后代根状茎增殖与分化条件 [J]. 浙江农林大学学报, 31(1):156-161.]
- SONG L, WANG YY, ZHANG YH, et al., 2017. Polyploid induction in *Cymbidium sinenthese* 'Lv mosu'× *Cymbidium hybridum* 'Shijieheping' rapid propagation techniques [J]. Jiangsu J Agric Sci, 45(24): 41-43. [宋莲, 王玉英, 张宇欢, 等, 2017. 墨兰绿墨素与大花蕙兰世界和平杂交种组培快繁技术 [J]. 江苏农业科学, 45(24):41-43.]
- WANG GX., 1989. Preliminary study on stems of cymbidium plants [J]. Acta Horti Sin, (4):314-315. [王国兴, 1989. 兰属(*Cymbidium*)植物茎的初探 [J]. 园艺学报, (4):314-315.]
- WU YQ, LÜ X, LI XL, et al., 2016. Culture conditions of protocorms proliferation of *Cremastra appendiculata* [J]. N Horti, (19):124-128.[吴彦秋, 吕享, 李小兰, 等, 2016. 杜鹃兰原球茎增殖培养条件 [J]. 北方园艺, (19):124-128.]
- WANG YY, SU C, LI HY, et al., 2015. Study on rapid propagation technique of *Cymbidium* with verge line pattern leaves induced by irradiation [J]. N Horti, 39(23):101-103. [王玉英, 苏畅, 李海燕, 等, 2015. 辐射诱变的线艺兰快繁技术体系研究 [J]. 北方园艺, 39(23):101-103.]
- XIE L, MA XJ, GUO HR, et al., 2014. Control of bud differentiation of protocorm-like bodies during proliferation and micropropagation of hybrid *Cymbidium* [J]. Plant Physiol J, 50(2):209-213. [谢利, 马晓娟, 郭和蓉, 等, 2014. 杂交兰类原球茎增殖中芽分化的控制和快速繁殖 [J]. 植物生理学报, 50(2):209-213.]
- XU SP, YUAN XP, WANG MF, et al., 2018. Micropropagation *in vitro* of *Cymbidium sinensis* [J]. Chin J Trop Crop, 39(5):926-930.[许申平, 袁秀云, 王默霏, 等, 2018. 墨兰(*Cymbiduim sinense*)组培快繁技术体系研究 [J]. 热带作物学报, 39(05):926-930.]
- ZUO LJ, LI ZQ, ZHENG ZY, et al., 2015. Study of *Cymbidium* hybrid rhizome proliferation and differentiation [J]. Jiangsu J Agric Sci, 43(06):54-56. [左利娟, 李志强, 郑志勇, 等, 2015. 杂交兰根状茎的增殖与分化成苗技术 [J]. 江苏农业科学, 43(6):54-56.]
- ZHU GF, WANG BQ, CHEN ML, et al., 2005. Study on hybridization among *Cymbidium* species and *Cymbidium hybrid* [J]. Chin Bull Bot, 22(4):445-448. [朱根发, 王碧青, 陈明莉, 等, 2005. 大花

蕙兰与兰属植物种间杂交研究 [J]. 植物学通报, 22(4): 445-448.]

ZHENG LM, 2010. Crossbreeding experiments between *Cymbidium goeringii* and *Cymbidium hybridum* [J]. J Zhejiang Educ Inst, (3):61-65. [郑立明, 2010. 春兰与大花蕙兰种间杂交育种的试验 [J]. 浙江教育学院学报, (3):61-65.]

ZHU GF, CHEN ML, LUO ZW, et al., 2004. Induction and propagation of hybrid protocorm like-body of crosses between *Cymbidium sinense* and *Cymbidium hybridum* [J]. Acta Horti Sin, 31(5): 688-690. [朱根发, 陈明莉, 罗智伟, 等, 2004. 墨兰与大花蕙兰种间杂种原球茎的诱导及增殖研究 [J]. 园艺学报, 31(5): 688-690.]